植 物 分 类 学 报 45 (1): 39–51(2007) doi:10.1360/aps06053
Acta Phytotaxonomica Sinica http://www.plantsystematics.com

忍冬属植物花药药隔的特化结构及其生物学意义

[1]江幸山 [1]吴 鸿* [2]伦 璇 [2]陆东雯
[1](华南农业大学生命科学学院 广州 510642)
[2](华南农业大学测试中心 广州 510642)

Morphological characteristics and biological significance of specialized connectives in *Lonicera* (Caprifoliaceae)

[1]JIANG Xing-Shan [1]WU Hong * [2]LUN Xuan [2]LU Dong-Wen
[1](*College of Life Science, South China Agricultural University*, Guangzhou 510642, China)
[2](*Test Center, South China Agricultural University,* Guangzhou 510642, China)

Abstract The specialized structure in connectives of anthers generally has important biological significance. However, information about idioblasts that accumulate phenolic compounds in connective is limited; moreover, biological significance of these phenolic idioblasts is unknown. In this study, semi-thin sectioning and cryo-sectioning techniques, and histochemical and cytochemical methods were employed to investigate morphological nature of the idioblasts in connectives of *Lonicera*. The experimental results showed that the idioblasts in the specialized connectives of *Lonicera* contained abundant phenolic compounds. In order to explore biological significance of the phenolic idioblasts in the specialized connectives, we observed ultrastructures of the phenolic idioblasts in different developmental stages, and also analyzed relationships of development of parenchyma to vascular bundles in connective of *Lonicera*. Our observations revealed that distribution, ultrastructure, and developmental process of the phenolic idioblasts were closely related to development of the vascular bundles in connectives, and that accumulation and degradation of phenolic compounds in these phenolic idioblasts happened alternately and regularly. So we inferred that prior to two-cell pollen stage, the specialized connective of *Lonicera* might be a temporary storage site of phenolic compounds to protect the developing vascular bundles from damage in anthers. By this way, the normal development of microspores and normal pollination could be ensured. However, after that stage, phenolic compounds began degrading. The degradation of these phenolic compounds might spread to other parts within the plant through vascular bundles, in order to provide precursor for synthesizing correlative components or reusing. Furthermore, our research showed that phenolic idioblasts could be a stable structural feature, and had specific distribution sites. All these findings might provide new embryological evidence for unraveling systematic relationships.

Key words *Lonicera*, connective, phenolic compounds, development.

摘要 花药药隔的特化结构通常具有重要的生物学意义。目前，有关药隔特化出贮存酚类物质的异细胞群的研究报道甚少，该特化结构有何生物学意义则未见报道。本研究运用半薄切片技术、冰冻切片技术、组织化学和细胞化学等方法对忍冬属*Lonicera*植物特化药隔异细胞群的主要内含物进行定性分

2006-05-12 收稿, 2006-08-29 收修改稿。
基金项目: 国家自然科学基金项目(30670119)(Supported by the National Natural Science Foundation of China, Grant No. 30670119)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: wh@scau.edu.cn; Tel.: 020-85288383)。

析，实验证明忍冬属特化药隔异细胞群内含丰富的酚类物质。另外通过对忍冬属华南忍冬*L. confusa*药隔薄壁组织的发育及其与药隔维管束的关系分析，推测忍冬属特化药隔可能一方面对发育中的花药维管束起保护作用，另一方面又可作为酚类物质的临时贮存场所。同时研究发现忍冬属植物特化药隔异细胞群的形成及其分布特点可能具有重要的系统学意义。

关键词　忍冬属；药隔；酚类物质；发育

药隔是花药内位于小孢子囊对之间的带状组织，它直接连接或程度不同地包围着孢子囊(Eames, 1961)，其主要结构包括药隔维管束和药隔薄壁组织(李扬汉, 1984)。药隔形态结构多样，功能各异，其主要功能是支持和连接着花粉囊，并供应花药发育时所需的水分和养料。药隔的其他功能可以涉及参与光合作用(Clement et al., 1997)，也可以作为代谢物质的临时装卸场所，例如积累单宁(Ronse De Craene et al., 2002)、淀粉(Lalonde et al., 1997)、草酸盐(Von Balthazar & Endress, 2002)等；药隔还可通过参与Ca^{2+}的积累，从而参与调控花粉的发育、萌发和花粉管的生长(Horner & Wagner, 1992; Tian et al., 1998; Meng et al., 2000)。药隔还可以参与许多结构的形成，例如特化出坚硬的盾状物以避免传粉昆虫对花药的伤害(Gottsberger, 1999)；产生油腺从而保护造孢组织(Ladd et al., 1999)；产生假花粉(Tsou, 1997; Iqbal & Wijesekara, 2002)；产生原胚(Faure et al., 1996)等。总之，药隔对小孢子发育和花粉散发起着重要作用。

花药的结构具有明显的遗传稳定性，在同属甚至同科内可以是一致的(Eames, 1961)。因此，花药的各种特征通常作为重要的系统分类学依据，例如花药的形态、药壁的形态(Von Balthazar & Endress, 2002)、花药的开裂方式(Ronse De Craene et al., 2002)、花粉形态(Webster & Carpenter, 2002; Schols et al., 2003)等。大量的文献表明，作为花药的重要组成部分，药隔的整体形态(Von Balthazar & Endress, 2002; Matthews & Endress, 2004, 2005)、药隔突出物(Caddick et al., 2002; Ronse De Craene et al., 2002; Von Balthazar & Endress, 2002; Luna & Ochoterena, 2004; Matthews & Endress, 2004, 2005)、药隔显微结构(Von Balthazar & Endress, 2002; Matthews & Endress, 2005)、药隔中的腺体(Ladd et al., 1999)、药隔内含物(Von Balthazar & Endress, 2002; Stauffer et al., 2004; Matthews & Endress, 2005)等方面的形态结构特征具有重要分类学价值，通常作为系统分类的胚胎学依据之一。

目前，关于药隔特化出贮存酚类物质的异细胞群的报道仅见于伯乐树科Bretschneideraceae的伯乐树*Bretschneidera sinensis* Hemsl.(Ronse De Craene et al., 2002)以及棕榈科Arecaceae的*Sommieria leucophylla* Becc.(Stauffer et al., 2004)，相关的研究没有经过组织化学反应、超微结构等方面的验证，更没有就其生物学意义进行讨论。而忍冬科Caprifoliaceae忍冬属*Lonicera* L.植物药隔特化出贮存酚类物质的异细胞群及此类特化的药隔是否具有分类学价值及其功能特点如何尚未见报道。

本文报道了忍冬科忍冬属花药药隔存在贮存酚类物质的异细胞群，在组织学和细胞学研究基础上揭示了忍冬属植物特化药隔的发生发育规律及其组织化学特征，并对其生物学意义进行了分析和探讨。这些研究结果不仅填补了有关药隔贮存酚类物质异细胞群的一些研究空白，还深入揭示了酚类物质在贮存酚类物质异细胞内的积累规律，并为忍冬科系统学研究提供了新的胚胎学资料。

1　材料和方法

1.1　研究材料

研究材料包括忍冬科忍冬属植物华南忍冬*L. confusa* DC.、水忍冬*L. dasystyla* Rehd.、忍冬*L. japonica* Thunb.、菰腺忍冬*L. hypoglauca* Miq.，于2004年3月至2005年4月采自华南农业大学校园栽培的植株。材料鉴定人：耿世磊。凭证标本存放于华南农业大学标本馆(CANT)(表1)。研究部位是：华南忍冬5个不同发育阶段的花蕾横切面，以及水忍冬、忍冬、菰腺忍冬的成熟花蕾横切面。

表**1**　材料来源
Table 1　Source of materials

种名 Species	采集地 Locality	凭证标本 Voucher
华南忍冬 *Lonicera confusa* DC.	广东广州 Guangzhou, Guangdong	江幸山(X. S. Jiang) 2003001 (CANT)
水忍冬 *L. dasystyla* Rehd.	广东广州 Guangzhou, Guangdong	江幸山(X. S. Jiang) 2003002 (CANT)
忍冬 *L. japonica* Thunb.	广东广州 Guangzhou, Guangdong	江幸山(X. S. Jiang) 2003003 (CANT)
菰腺忍冬 *L. hypoglauca* Miq.	广东广州 Guangzhou, Guangdong	江幸山(X. S. Jiang) 2003004 (CANT)

1.2　实验方法

1.2.1　冰冻切片法　调节Leica CM1850冰冻切片机的温度至–18 ℃，在常温下将华南忍冬、水忍冬、忍冬、菰腺忍冬的成熟花药(直接使用新鲜材料，每个种的材料来自1–3个植株的2–10个花序)置于冰冻切片机的固着器上，并在材料周围滴上蒸馏水，待蒸馏水凝固后进行冰冻切片，切片厚度30 μm。切片主要用于活体组织化学反应。

1.2.2　半薄切片法　取各发育阶段的华南忍冬花药(材料来自5个植株、约10个花序中的花蕾，每个发育阶段观察8–12个花药)迅速固定于0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.2)配制的4%戊二醛中，在4 ℃固定过夜，磷酸缓冲液冲洗3次，再用0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.2)配制的1%锇酸溶液常温固定3 h，磷酸缓冲液冲洗3次，系列酒精脱水，环氧丙烷过渡，Epon 812包埋，奥地利Reichert-Jung超薄切片机切片，切片厚1.5–2 μm。用铁钒-苏木精染色法染色，中性树胶封片，Leica DMLB显微镜观察，Leica DFC320数码相机照相。

1.2.3　细胞化学法　由于许多酚类物质能够被四氧化锇强烈着色(Parham & Kaustinen, 1976)，而且该着色产物以较易辨认的聚合方式存在(Franceschi et al., 1998)。因此，利用电子显微镜技术可以观察到酚类物质与重金属锇离子形成的不透明着色产物在组织和细胞中的分布情况。通过步骤1.2.2对华南忍冬花药的半薄切片的观察，可以识别各发育阶段花药的显微结构。为进一步了解各发育阶段华南忍冬花药药隔的超微结构，我们选取经过1.2.2制备的华南忍冬花药的包埋块(每个发育阶段选取3个材料)，利用奥地利产Reichert-Jung超薄切片机切片，切片厚度60–70 nm。醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色15–20 min，荷兰产FEI-Tecnai 12分析型透射电子显微镜上观察并照相。

1.2.4　组织化学法　(1) $FeCl_3$反应法(Reeve, 1951)：在冰冻切片上滴加1% $FeCl_3$无水乙醇溶液，反应5 min后用蒸馏水将多余的$FeCl_3$冲掉，蒸馏水封片观察。有绿色、蓝色、紫色反应产物产生的为阳性反应，以显示酚类物质的分布。每个种的材料做3个重复实验。

(2)Hoepfner-Vorsatz法(Reeve, 1951): 在冰冻切片上依次滴加10%亚硝酸钠、20%尿素、10%醋酸, 3 min后滴加2 mol/L NaOH, 以上4种试剂滴加的量为1:1:1:2。蒸馏水封片观察。以各种特征性颜色反应产物的形成来判断酚类物质的分布。每个种的材料做5个重复实验。所有组织化学反应切片用Leica DMLB显微镜观察拍照。

2 观察结果

忍冬属4种植物(华南忍冬、水忍冬、忍冬、菰腺忍冬)花药结构相同, 横切面近扇形, 药隔发达, 位于维管束近轴面的药隔薄壁组织细胞特化为贮存酚类物质的异细胞。

2.1 花药药隔薄壁组织细胞具有丰富的酚类物质

华南忍冬具有发达的药隔和药隔薄壁组织。利用铁矾苏木精染色后, 可见其药隔薄壁组织形成强烈的着色细胞团(图5)。为了判断其内含物的性质, 我们分别采用PAS反应、考马斯亮蓝、苏丹III进行组织化学测定, 证明其并非多糖、蛋白质或脂肪类物质(未显示)。有趣的是, 利用$FeCl_3$的无水乙醇溶液对华南忍冬成熟花蕾的冰冻切片进行检测, 结果显示出花瓣、药隔表皮细胞和药隔维管束近轴面的药隔异细胞群有明显的深墨绿色反应产物出现(图20)。根据酚能与$FeCl_3$的水溶液显色形成特殊反应, 初步认为该深墨绿色为酚类物质的反应产物。但是并非所有的酚类物质都能起该反应, 而且$FeCl_3$反应容易受其他物质的干扰(Reeve, 1951)。因此, 为了进一步确定酚类物质的存在, 利用Hoepfner-Vorsatz反应对华南忍冬成熟花药的冰冻切片进行检测, 结果显示药隔表皮细胞和药隔维管束近轴面的药隔异细胞群有性质稳定的樱桃红色反应产物出现(图21), 根据显色反应, 认定是酚类物质的反应产物(Reeve, 1951)。另外, 实验显示出在反应后的10 s内, 花瓣内也出现鲜樱桃红色反应产物, 但随着时间的延长, 樱桃红色较快褪去, 最后花瓣变成淡黄色。根据显色反应, 可以认定是酚类物质的反应产物, 但其种类可能与分布于药隔异细胞群的酚类物质不同。

为了探讨该特化药隔结构在忍冬属的普遍性, 本研究对忍冬属的其他几个种(水忍冬、菰腺忍冬、忍冬)的成熟花药进行了Hoepfner-Vorsatz反应。结果显示, 忍冬属的华南忍冬(图21)、水忍冬(图22)、菰腺忍冬(图23)、忍冬(图24)花药结构相同, 横切面近扇形, 药隔发达, 位于维管束近轴面的药隔薄壁组织细胞特化为贮存酚类物质的细胞群。

2.2 花药药隔的发育过程中伴随着酚类物质的积累和分解

实验结果显示, 华南忍冬花药发育过程中, 相应的药隔细胞逐渐分化成熟, 并分化出贮存酚类物质的异细胞群。本研究根据华南忍冬花药发育过程中小孢子的发生发育情况, 将其划分为6个时期: 造孢细胞时期、小孢子母细胞时期、小孢子四分体时期、单核小孢子时期、二细胞花粉时期、三细胞花粉时期。在这6个时期里, 药隔的主要发育过程及特点如下。

2.2.1 造孢细胞时期 从雄蕊原基发育而成的一个幼小花药的横切面来看, 外面是一层原表皮, 原表皮下是一群分裂活跃的分生组织细胞。其中, 造孢细胞位于原表皮以内花药横切面的四个角隅处, 药隔原形成层位于横切面近中央。位于药隔原形成层近轴面的薄壁组织细胞体积较大, 细胞质相对淡薄, 这些细胞将分化成为药隔薄壁组织细胞(图1)。

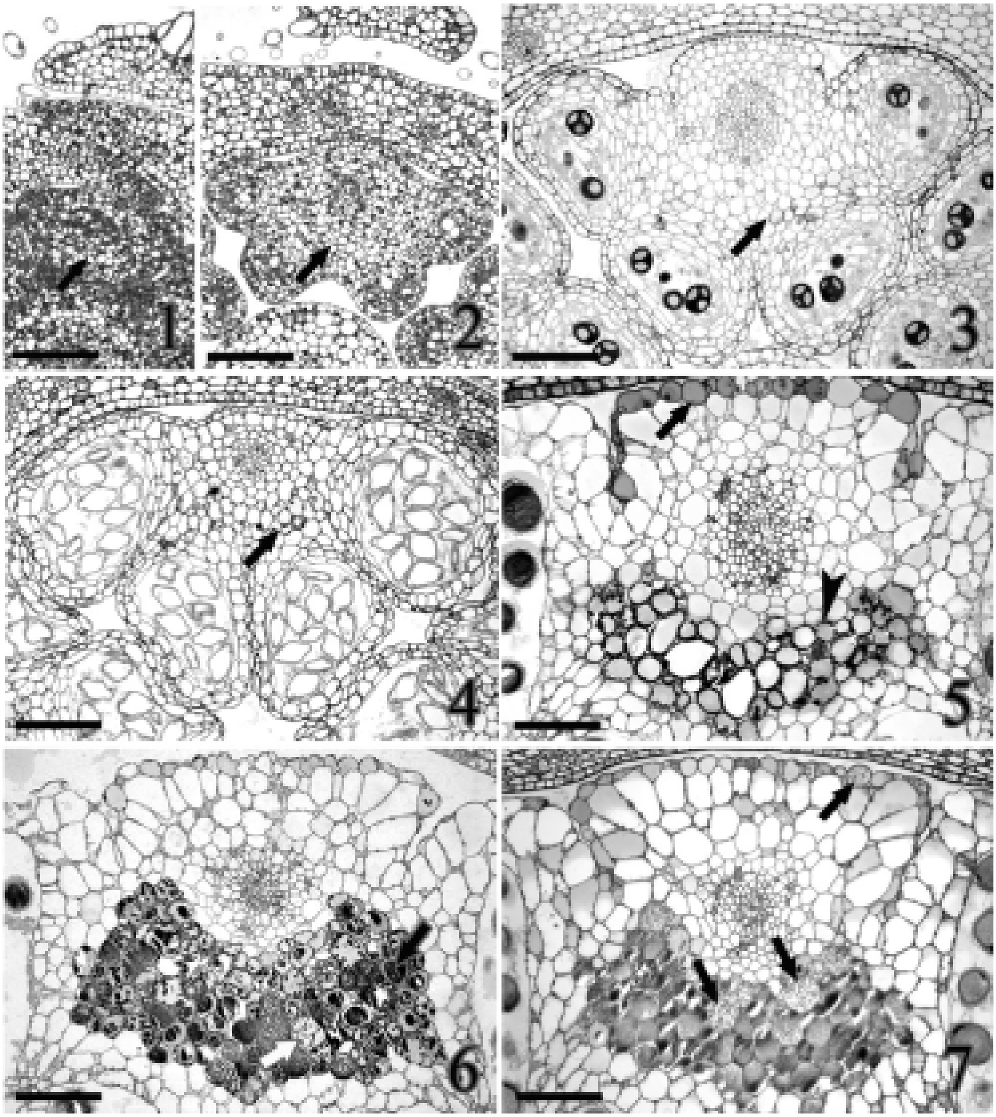


图 **1–7**　光学显微镜下各发育时期的华南忍冬花药横切面　**1，2.** 造孢细胞时期和小孢子母细胞时期的花药，药隔(箭头)还没有分化出贮存酚类物质的特化药隔异细胞。**3.** 小孢子四分体时期的花药，贮存酚类物质的特化药隔异细胞开始分化(箭头)。**4.** 单核小孢子时期的花药，更多药隔薄壁细胞特化成为酚类物质的特化药隔异细胞(箭头)。**5.** 二细胞花粉时期的药隔，正对药隔维管束的药隔表皮细胞也特化成为贮存酚类物质的异细胞(箭头)。 **6.** 二细胞花粉时期的药隔，大部分药隔异细胞内含物的积累达到高峰(黑色箭头)，少部分异细胞的液泡内含物开始发生降解(白色箭头)。**7.** 三细胞花粉时期的药隔，显示更多药隔异细胞的内含物发生进一步降解。
标尺: 1–7, 100 μm。

Figs. 1–7. Transverse sections of anthers of *Lonicera confusa* DC., showing the connectives at different developmental stages under LM. **1, 2.** Anthers at the sporogenous cells stage and the microspore mother cells stage, showing no phenolic idioblasts in the connectives (arrows). **3.** Anther at the microspore tetrad stage, showing occurrence of phenolic idioblasts in the connective (arrow). **4.** Anther at the mononuclear microspores stage, showing more phenolic idioblasts derived from neighboring parenchyma cells in the connective (arrow). **5.** Connective at the two-cell pollen stage, showing epidermal cells of the connective that differentiate to phenolic idioblasts (arrow). **6.** Connective at the two-cell pollen stage, showing abundant phenolic compounds in some idioblasts (black arrow) and degrading inclusion in other idioblasts in the connective (white arrow). **7.** Connective at the three-cell pollen stage, showing continuously degrading inclusion in phenolic idioblasts in the connective.
Scale bars: 1–7, 100 μm.

2.2.2 小孢子母细胞时期 开始出现花粉囊和药隔的分化。花粉囊壁紧裹着造孢细胞，药隔则支持和连接着两侧花粉囊。位于药隔原形成层近轴面的药隔薄壁组织细胞进一步增大体积，但其细胞质依然淡薄(图2)。从电镜水平上的观察得知，这些药隔薄壁组织细胞为成熟的薄壁组织细胞，液泡较大，细胞之间形态相似，排列松散，还没有特化为贮存酚类物质的异细胞(图8)。这个时期的药隔维管束细胞还处于分生组织细胞阶段(图9)。

2.2.3 小孢子四分体时期 位于药隔维管束近轴面的药隔薄壁细胞体积增大较快，细胞呈椭圆形，有少量药隔薄壁组织细胞着色相对较深(图3)。从电镜水平上的观察得知，这些着色较深的药隔薄壁组织细胞就是刚刚分化形成的贮存酚类物质的异细胞，其大液泡占细胞体积的90%以上，细胞液呈灰色，液泡内紧贴液泡膜处有黑色内含物积累，成为紧贴液泡膜薄薄的一层(图10, 11)。明显不同的是，位于特化药隔异细胞附近的普通药隔细胞的大液泡呈白色，且液泡膜及液泡内部没有类似的黑色内含物积累(图10)。这时，药隔维管束细胞开始分化出初生韧皮部和初生木质部(图12)，有部分初生木质部细胞已经开始降解，个别初生木质部细胞已经完成细胞壁木化加厚(图12)。

2.2.4 单核小孢子时期 随着药隔的进一步发育，越来越多的药隔薄壁组织细胞着色变深，分化成贮存酚类物质的异细胞(图4)。药隔异细胞内的黑色内含物不断被积累，除了紧贴液泡膜的一层以外，还积累成半圆球状或圆球状(图13)。相互靠近的黑色内含物可以相互连接，成为体积较大、形态不规则的内含物。

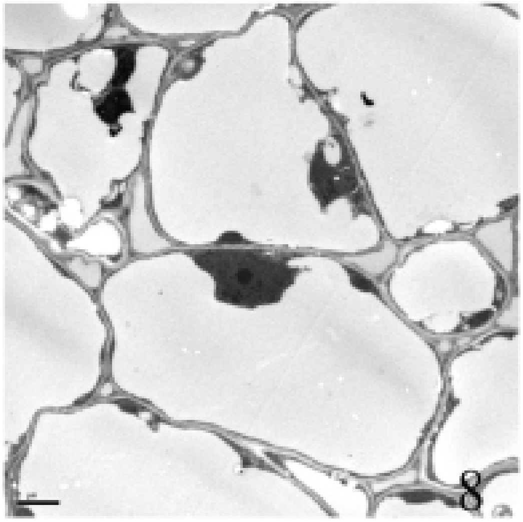
2.2.5 二细胞花粉时期 正对药隔维管束的药隔表皮细胞也特化成为贮存酚类物质的异细胞(图5)，位于药隔维管束近轴面的药隔异细胞群在花药横切面上呈弯月形，从下方半包含着维管束(图5)，异细胞内含物不断增多，紧贴液泡膜的一层内含物明显增厚(图5, 14)。随着花药的进一步发育，在同一个花药的药隔里，大部分药隔异细胞内随着越来越多的内含物不断被积累且相互交联，内含物的积累达到高峰(图6, 15)；而少部分异细胞的液泡内含物开始降解，其存在形式逐渐变为均匀而松散的絮状聚合方式(图6, 16, 17)。

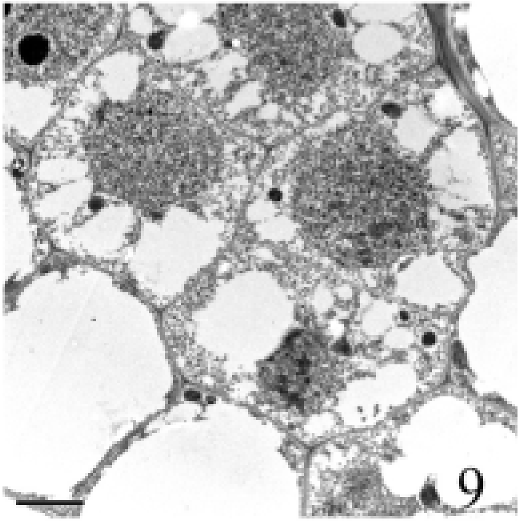
2.2.6 三细胞花粉时期 更多药隔异细胞的内含物发生进一步降解(图7)，降解程度高的内含物其聚合形式为松散的孔状聚合(图18)。这时，药隔维管束细胞已分化完成(图19)，其木质部细胞已经完成细胞壁的木化加厚。

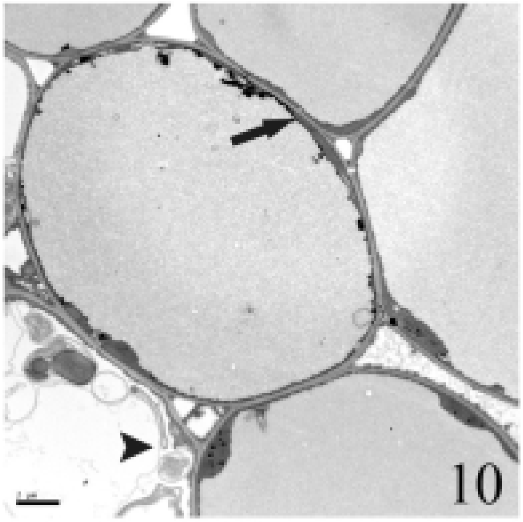
→

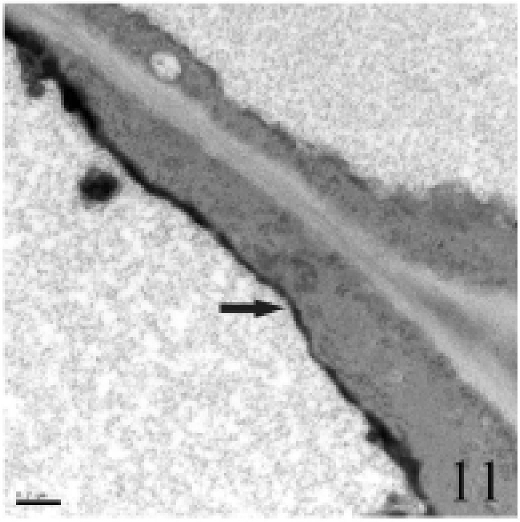
图**8–13** 透射电镜下各发育时期的华南忍冬药隔薄壁细胞及药隔维管束的超微结构 **8.** 小孢子母细胞时期的药隔薄壁细胞，还没有分化出特化的药隔薄壁细胞。**9.** 小孢子母细胞时期的药隔维管束细胞，处于分生组织细胞阶段。**10.** 小孢子四分体时期的药隔薄壁细胞，刚刚分化出少量特化药隔薄壁细胞，特化细胞液泡内紧贴液泡膜处有黑色内含物积累(箭头)。**11.** 图10的放大，显示黑色内含物在液泡膜上的积累情况(箭头)。**12.** 小孢子四分体时期的药隔维管束细胞，开始分化出初生韧皮部(白色箭头)和初生木质部(黑箭头)。**13.** 单核小孢子时期的药隔薄壁细胞，示其内含物的聚合形式(箭头)。
标尺: 8–10, 12, 13, 2 μm; 11, 0.2 μm。

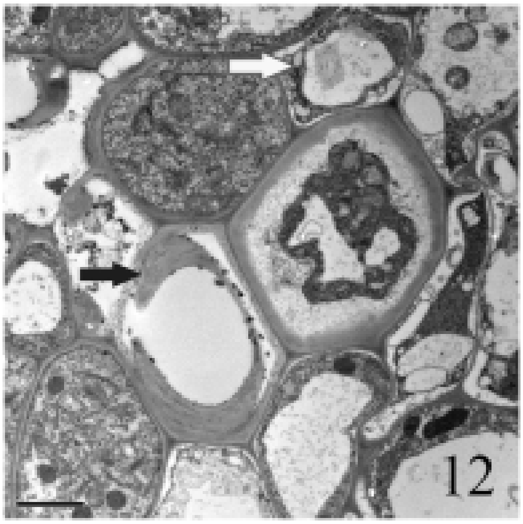
Figs. 8–13. Transverse sections of parenchyma cells and vascular bundle cells in the connective of *Lonicera confusa*, showing ultrastructures at different developmental stages under TEM. **8.** Absence of the phenolic idioblasts in parenchyma cells of the connective at the microspore mother cells stage. **9.** Differentiating procambial cells of the connective at the microspore mother cells stage. **10.** A small number of newly differentiated phenolic idioblasts, and some black inclusion found inside the tonoplast in phenolic idioblast (arrow) at the microspore tetrad stage. **11.** A magnified part of Fig. 10, showing some black inclusion aggregated inside the protoplast**.** **12.** The vascular bundle of the connective with differentiating primary xylem (black arrow) and primary phloem (white arrow) at the microspore tetrad stage. **13.** Part of some phenolic idioblasts at the mononuclear microspores stage, showing some inclusion in the vacuoles (arrows).
Scale bars: 8–10, 12, 13, 2 μm; 11, 0.2 μm.

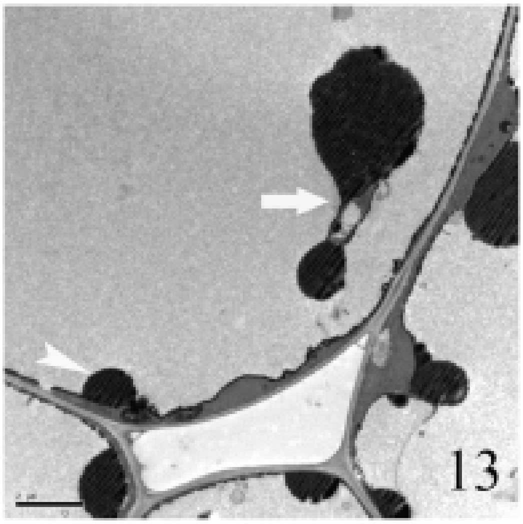

8

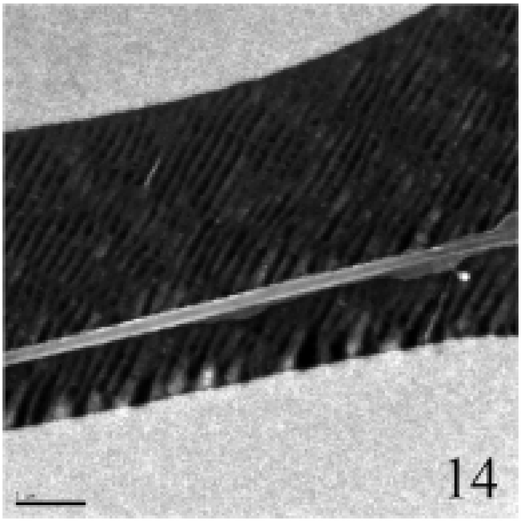

9

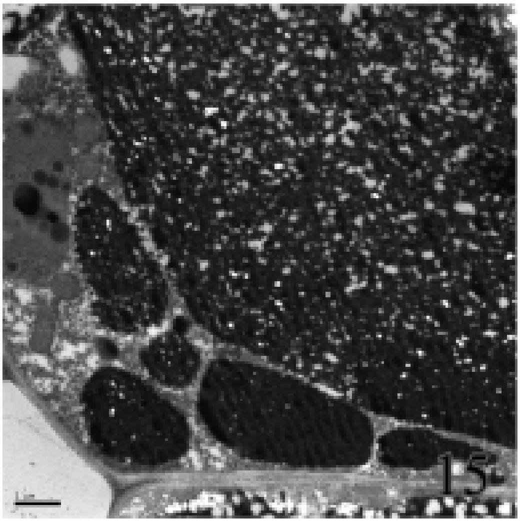

10

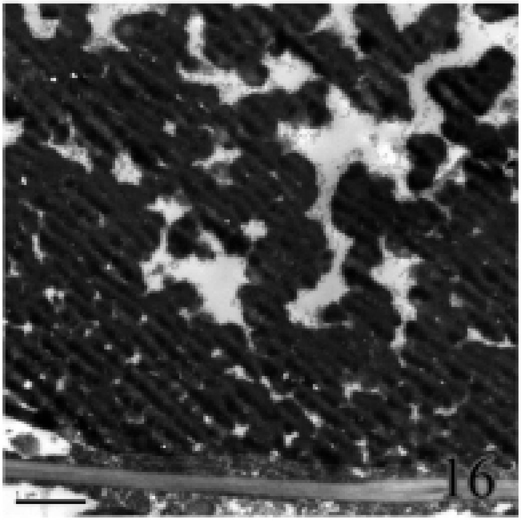

11

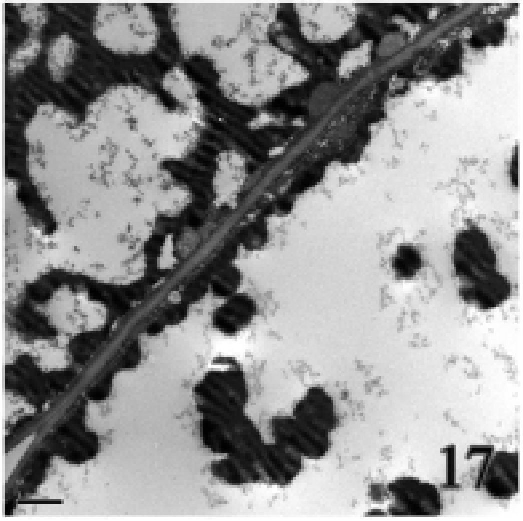

12

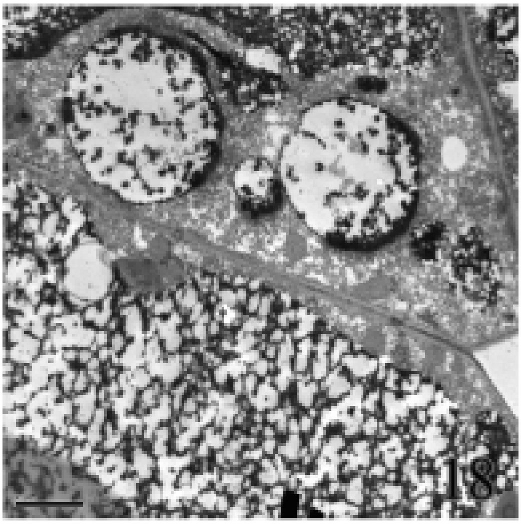

13

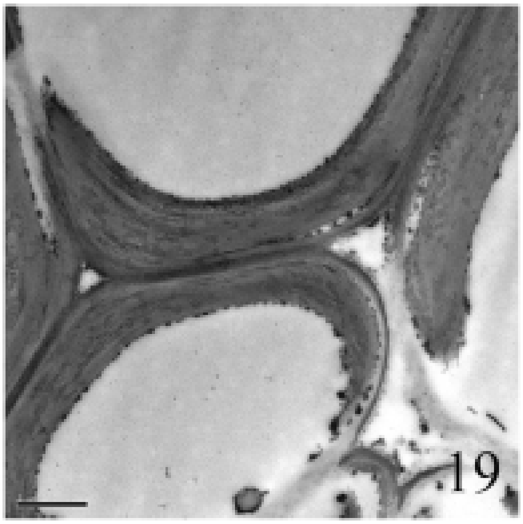

14


15


16


17


18


19

3 讨论

3.1 忍冬属植物药隔薄壁组织特化为贮存酚类物质的异细胞群

植物花药药隔薄壁组织细胞可以具有积累多种物质的功能，例如积累单宁(Ronse De Craene et al., 2002)、淀粉(Lalonde et al., 1997)、草酸盐(Von Balthazar & Endress, 2002)、蛋白质(Stadler et al., 1999)等。到目前为止，药隔贮存酚类物质的报道仅见于伯乐树(Ronse De Craene et al., 2002)以及*Sommieria leucophylla* (Stauffer et al., 2004)。其中，对于伯乐树的报道只提到“有一个明显的单宁着色区围绕着药隔”(Ronse De Craene et al., 2002)。对于*Sommieria leucophylla*的报道只提及其药隔组织含有单宁酸(Stauffer et al., 2004)。以上两项研究结果没有经过组织化学反应、超微结构等方面的验证，也没有就其生物学意义进行讨论。由于许多酚类物质能够被四氧化锇强烈着色(Parham & Kaustinen, 1976)，而且该着色产物以较易辨认的聚合方式存在(Franceschi et al., 1998)。因此，利用光学显微镜和电子显微镜技术观察华南忍冬药隔细胞的发育情况，可以研究多酚类物质在特化药隔异细胞中分布积累的动态变化，并可以在此基础上探讨多酚物质的合成场所和转运途径。同时，通过研究特化药隔异细胞群的发育与药隔维管束发育的关系，可以推测特化药隔异细胞群在药隔维管束发育中所起的作用。

实验结果显示，酚类物质分布在特化药隔异细胞的液泡内，而其他细胞器及细胞质中均缺乏酚类物质的分布。这些研究结果基本上与Franceschi(1998)对欧洲云杉*Picea abies* (L.) H. Karsten树皮中酚类物质薄壁贮存细胞的观察结果相同。可以认为，液泡应该是酚类物质的主要贮藏场所。然而，Franceschi(1998)发现调控多酚合成的关键酶——苯基丙氨酸裂合酶分布于酚类物质薄壁贮存细胞的细胞膜上，但并未就多酚合成场所进行深入探讨。本文对各发育阶段的特化药隔异细胞超微结构的观察发现，在积累早期，酚沉淀物主要在紧贴液泡膜处呈薄层状积累；随着药隔的分化，其积累量逐渐增加，并在液泡中积累。在积累中期至高峰期时它们主要呈半圆球状或圆球状聚合，聚合物间不断交联，逐渐形成体积更大的聚合物，分布于液泡中。在由积累转变成降解的时期，酚类物质主要呈松散的絮状聚合至孔状聚合。由此可以推测，酚类前体物质可能是由质膜合成，然后转至液泡膜上进行聚合，最后在细胞液中贮存和利用。

←

图**14–19**　透射电镜下各发育时期的华南忍冬药隔薄壁细胞及药隔维管束的超微结构　**14.** 二细胞花粉时期的药隔异细胞，其异细胞内含物增多。**15.** 二细胞花粉时期的部分药隔异细胞，其黑色内含物的积累达到高峰。**16, 17.** 二细胞花粉时期的部分药隔异细胞，其黑色内含物开始逐渐降解。**18.** 三细胞花粉时期的一些药隔异细胞，示其接近完全降解的黑色内含物。**19.** 三细胞花粉时期的药隔维管束细胞已经分化完成，其木质部细胞已经完成细胞壁的木化加厚。
标尺: 14–17, 19, 1 μm; 18, 2 μm.

Figs. 14–19. Transverse sections of parenchyma cells and vascular bundle cells in the connective of *Lonicera confusa*, showing ultrastructures at different developmental stages under TEM. **14.** Part of two adjacent phenolic idioblasts at the two-cell pollen stage, showing the increased inclusion. **15.** Part of a phenolic idioblast at the two-cell pollen stage, showing accumulation of the content of inclusion at peak. **16, 17.** Part of some phenolic idioblasts at the two-cell pollen stage, showing their degrading inclusion. **18.** Part of two adjacent phenolic idioblasts at the three-cell pollen stage, showing almost complete degradation of their inclusion. **19.** Vascular bundle with lignified xylem cells at the three-cell pollen stage.
Scale bars: 14–17, 19, 1 μm; 18, 2 μm.

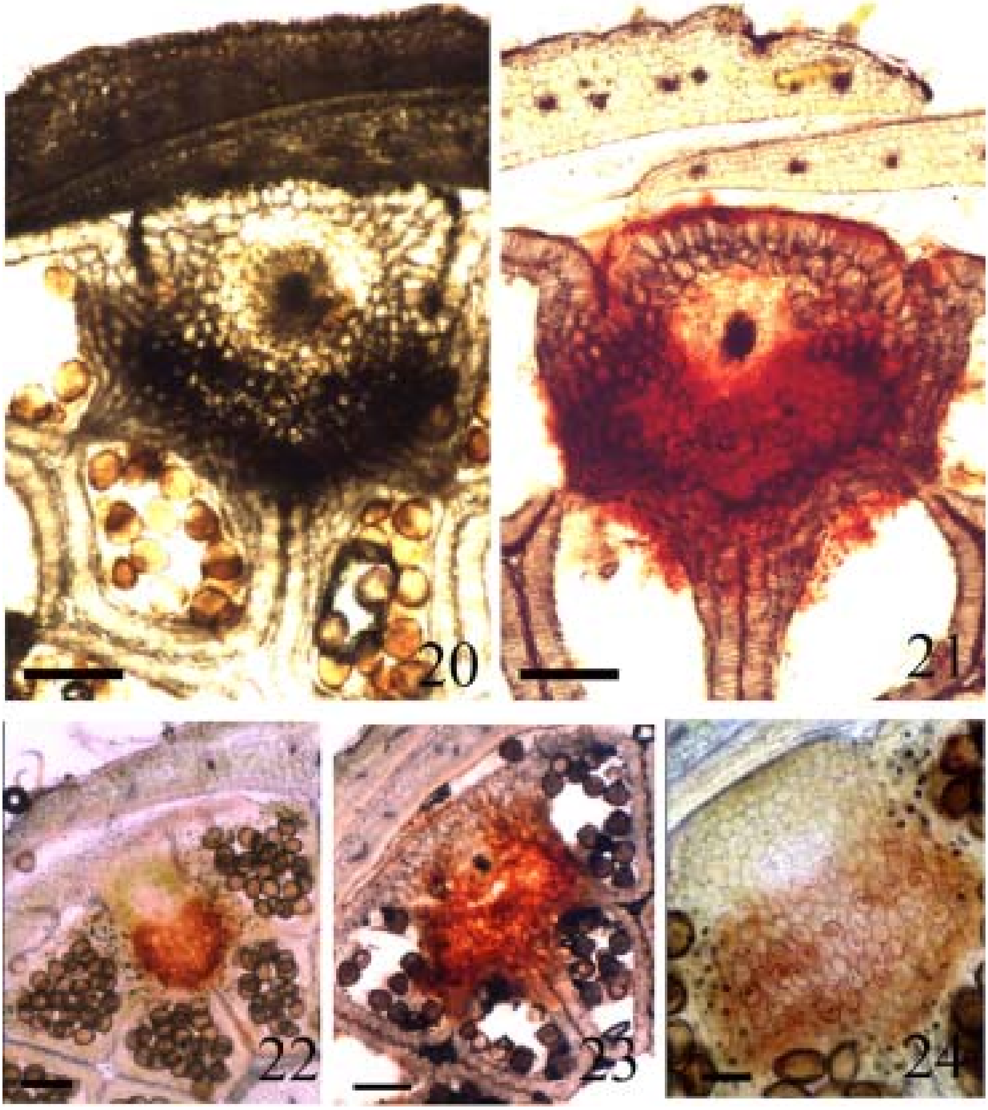


图**20–24** 光学显微镜下4种忍冬属植物药隔组织化学反应结果 **20.** 华南忍冬成熟花蕾冰冻切片的FeCl$_3$反应结果。**21–24.** 分别为华南忍冬、水忍冬、菰腺忍冬和忍冬成熟花蕾冰冻切片的Hoepfner-Vorsatz反应结果。
标尺: 20, 21, 23, 50 μm; 22, 20 μm; 24, 40 μm.

Figs. 20–24. Histochemical reactions on connectives of four species of *Lonicera* under LM. **20.** FeCl$_3$-reaction on the cryo-section of alabastrums of *Lonicera confusa*. **21–24.** Hoepfner-Vorsatz reaction on the cryo-sections of alabastrums of *L. confusa*, *L. dasystyla*, *L. japonica* and *L. hypoglauca*.
Scale bars: 20, 21, 23, 50 μm; 22, 20 μm; 24, 40 μm.

3.2 忍冬属植物特化药隔异细胞群是酚类物质的临时装卸场所，对花药起保护作用

植物花药药隔薄壁组织细胞可以积累各种物质，不但对代谢物质起临时装卸的作用(Lalonde et al., 1997, Ronse De Craene et al., 2002, Von Balthazar & Endress, 2002)，还可以行使着某种重要的生理功能，如调控花药开裂(Stadler et al., 1999)。

多酚类物质是植物次生代谢物中的一大类，广泛分布于维管植物中，在植物与有害生物相互作用中起到重要作用(钦俊德, 1987)。通常，贮存酚类物质的薄壁组织细胞能活跃地合成、贮存和修饰酚类物质；在植物体受伤后，酚类贮存细胞可以释放贮存的酚类物质，以发挥其保护功能。这种特殊的可诱导的防御功能，使其在防御细菌和甲虫的攻击中发挥了更有效的作用(Franceschi et al., 1998, 2000, 2002)。

忍冬属植物的传粉方式属于虫媒传粉，不少传粉者在传粉过程中有咬食花药以获取花粉粒的行为(Johnson & Dafni, 1998; Gottsberger, 1999; Thomson et al., 2000; Matsui et al., 2001)。传粉者对已开裂的花药无需咬开就可以获取花药，相反，未开裂或者尚未完全开裂的花药自然容易受到传粉者的咬食及伤害。由此可以认为，药隔中积累酚类物质是忍冬属花药对昆虫咬食所带来的进化压力的反应，这一适应可以有效地阻止传粉昆虫在传粉过程中咬食花药。

忍冬属植物的特化药隔异细胞群在分布位置、形态结构及发育过程方面都与药隔维管束的发育密切相关：特化的药隔异细胞群位于药隔表皮和药隔维管束近轴面，位于药隔维管束近轴面的药隔异细胞群横切面呈弯月形，与药隔表皮异细胞一起分别从内外包围着药隔维管束。特化药隔异细胞出现于原形成层开始分化出初生韧皮部和初生木质部时期，并随维管束的发育而不断积累大量酚类物质。当特化药隔异细胞群积累的酚类物质从高峰期逐渐转向降解期时，大部分药隔维管束细胞已经分化成熟，花药接近开裂。

由此推论：忍冬属植物特化药隔异细胞群在药隔维管束以及花粉粒完全分化成熟以前是酚类物质的临时装卸场所，在这段时期内积累酚类物质可以保护发育中的药隔维管束使其免受有害生物的伤害，以保证药隔维管束为花药供应发育时所需的水分和养料，从而保证花药的正常发育和传粉。在药隔维管束以及花粉粒开始分化成熟以后，特化药隔异细胞群的酚类物质开始降解，而此时期花药的其他细胞均没有酚类物质的存在，所以可以推测，降解产物可能通过成熟的维管束转运到植物体其他部位，为植物生长发育所需物质的合成提供了前体物。

3.3　忍冬属植物特化药隔异细胞群的形成可能具有重要的系统学意义

花药药隔形态多样，通常具有重要的分类学意义。例如药隔整体形态(Von Balthazar & Endress, 2002; Matthews & Endress, 2004, 2005)、药隔突出物(Caddick et al., 2002; Ronse De Craene et al., 2002; Von Balthazar & Endress, 2002; Luna & Ochoterena, 2004; Matthews & Endress, 2004, 2005)、药隔显微结构(Von Balthazar & Endress, 2002; Matthews & Endress, 2004, 2005)、药隔表皮特征(Von Balthazar & Endress, 2002; Matthews & Endress, 2005)、药隔是否具有假花粉(Luna & Ochoterena, 2004)、药隔内含物(Ladd et al., 1999; Von Balthazar & Endress, 2002; Stauffer et al., 2004; Matthews & Endress, 2005)等方面的特征，常作为许多分类群胚胎学方面的系统分类依据之一。其中，以药隔薄壁组织细胞内含物作为系统分类依据，通过比较药隔薄壁组织细胞是否含有某一特征性内含物来讨论研究对象的系统分类问题还没受到系统学家的重视。

Ladd等(1999)在研究桃金娘科Myrtaceae的*Verticordia* DC.的花药多样性及其功能时，详细地比较研究了分布在药隔中的油腺(内含脂类物质)，并在此基础上讨论了该属的种间系统关系。Von Balthazar和Endress(2002)对黄杨科Buxaceae 5个属的花器官进行了系统

的比较解剖学研究。其中，对药隔的形态和结构进行了详细比较，并在此基础上讨论了黄杨科属间的系统关系，同时指出突出的药隔具有保护花药能育部分的功能。但有关药隔薄壁细胞内含物方面的研究，只提及*Notobuxus natalensis* Oliv.的药隔积累草酸盐晶体，没有讨论其系统分类学意义。同样, Matthews和Endress(2005)对Crossosomatales的7个科进行花器官的系统解剖学研究中，有关药隔形态解剖学方面的证据，也只有药隔是否突出，药隔背部表皮是否存在气孔这两点特征被用于Crossosomatales的系统学研究。至于药隔内含物方面，仅报道了*Aphloia theaeformis* Benn.药隔含有草酸盐晶簇，同样没有讨论其系统分类学意义。但是，该研究就草酸盐晶体异细胞在各科花器官的分布部位进行了比较，并在此基础上讨论了科间的系统演化关系。

本研究所涉及的忍冬属的4个种(华南忍冬、水忍冬、菰腺忍冬、忍冬)的花药结构相似，均存在特化药隔结构，部分药隔薄壁细胞特化为贮存酚类物质的异细胞群。不难看出，特化药隔异细胞在忍冬属花药里存在一定的普遍性，但其分布部位有所不同：在华南忍冬和菰腺忍冬的花药里，异细胞分布于药隔表皮细胞和药隔维管束的近轴面，而在水忍冬和忍冬的花药里，异细胞仅分布在药隔维管束的近轴面。另外，我们的研究发现特化药隔异细胞群也存在于广义忍冬科的荚蒾属*Viburnum* L.和接骨木属*Sambucus* L.的花药内，但在花药横切面上的分布部位与忍冬属有所不同；而忍冬科的六道木属*Abelia* R. Br.则不存在该类特化异细胞群(资料未显示)。由此可见，特化的贮存酚类物质的药隔异细胞群在忍冬科某些属的花药内可以形成稳定的结构特征，并且具有特定的分布部位。遗憾的是目前还未见有关忍冬科特化药隔异细胞群的系统学意义方面的研究报道。忍冬科特化药隔异细胞群的发现，将为该科系统学研究提供新的胚胎学资料。

致谢　深圳仙湖植物园张寿洲副研究员和欧阳海波同志、华南农业大学耿世磊副教授及唐光大同志和李鹏同志在实验材料采集方面给予大力支持和帮助；华南农业大学刘向东教授在冰冻切片技术方面给予耐心的指导和热心的帮助；华南农业大学梁社坚同志在透射电镜观察方面给予热情的协助，谨在此一并致谢！

参考文献

Caddick L R, Rudall P J, Wilkin P, Hedderson T A J, Chase M W. 2002. Phylogenetics of Dioscoreales based on combined analyses of morphological and molecular data. Botanical Journal of the Linnean Society 138: 123–144.

Clement C, Mischler P, Burrus M, Audran J-C. 1997. Characteristics of the photosynthetic apparatus and CO_2-fixation in the flower bud of *Lilium*. II. Anther. International Journal of Plant Sciences 158: 801–810.

Eames A J. 1961. Morphology of the Angiosperms. New York: McGrow-Hill.

Faure O, Aarrouf J, Nougaréde A. 1996. Ontogenesis, differentiation and precocious germination in anther-derived somatic embryos of grapevine (*Vitis vinifera* L.): Proembryogenesis. Annals of Botany 78: 23–28.

Franceschi V R, Krekling T, Berryman A A, Christiansen E. 1998. Specialized phloem parenchyma cells in Norway spruce (Pinaceae) bark are an important site of defense reactions. American Journal of Botany 85: 601–615.

Franceschi V R, Krekling T, Christiansen E. 2002. Application of methyl jasmonate on *Picea abies* (Pinaceae) stems induces defense-related responses in phloem and xylem. American Journal of Botany 89: 578–586.

Franceschi V R, Krokene P, Krekling T, Christiansen E. 2000. Phloem parenchyma cells are involved in local and distant defense responses to fungal inoculation or bark-beetle attack in Norway spruce (Pinaceae).

American Journal of Botany 87: 314–326.

Gottsberger G. 1999. Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. Plant Species Biology 14: 143–152.

Horner H T, Wagner B L. 1992. Association of 4 different calcium crystals in the anther connective-tissue and hypodermal stomium of capsicum-annuum (Solanaceae) during microsporogenesis. American Journal of Botany 79: 531–541.

Iqbal M C M, Wijesekara K B. 2002. Cells of the connective tissue differentiate and migrate into pollen sacs. Naturwissenschaften 89: 39–42.

Johnson S D, Dafni A. 1998. Response of bee-flies to the shape and pattern of model flowers: implications for floral evolution in a Mediterranean herb. Functional Ecology 12: 289–297.

Ladd P G, Parnell J A N, Thomson G. 1999. Anther diversity and function in *Verticordia* DC. (Myrtaceae). Plant Systematics and Evolution 219: 79–97.

Lalonde S, Beebe D U, Saini H S. 1997. Early signs of disruption of wheat anther development associated with the induction of male sterility by meiotic-stage water deficit. Sexual Plant Reproduction 10: 40–48.

Li Y-H (李扬汉). 1984. Botany (植物学). 2nd ed. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers. 187.

Luna I, Ochoterena H. 2004. Phylogenetic relationships of the genera of Theaceae based on morphology. Cladistics 20: 223–270.

Matsui K, Ushimaru T, Fujita N. 2001. Pollinator limitation in a deceptive orchid, *Pogonia japonica*, on a floating peat mat. Plant Species Biology 16: 231–235.

Matthews M L, Endress P K. 2004. Comparative floral structure and systematics in Cucurbitales (Corynocarpaceae, Coriariaceae, Tetramelaceae, Datiscaceae, Begoniaceae, Cucurbitaceae, Anisophylleaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 145: 129–185.

Matthews M L, Endress P K. 2005. Comparative floral structure and systematics in Crossosomatales (Crossosomataceae, Stachyuraceae, Staphyleaceae, Aphloiaceae, Geissolomataceae, Ixerbaceae, Strasburgeriaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 147: 1–46.

Meng X-H (孟祥红), Wang J-B (王建波), Li R-Q (利容千). 2000. Effect of photoperiod on calcium distribution in photoperiod-sensitive cytoplasmic male-sterile wheat during anther development. Acta Botanica Sinica (植物学报) 42: 15–22.

Parham R A, Kaustinen H M. 1976. Differential staining of tannin in sections of epoxy-embedded plant cells. Stain Technology 51: 237–240.

Qin J-D (钦俊德). 1987. The relationship between insects and plants: discussion of the interaction and evolution between insects and plants (昆虫与植物的关系: 论昆虫与植物的相互作用及其演化). Beijing: Science Press. 41, 48–51.

Reeve R M. 1951. Histochemical tests for polyphenols in plant tissues. Stain Technology 26: 91–96.

Ronse De Craene L P, Yang T Y A, Schols P, Smets E. 2002. Floral anatomy and systematics of *Bretschneidera* (Bretschneideraceae). Botanical Journal of the Linnean Society 139: 29–45.

Schols P, Furness C A, Wilkin P, Smets E, Cielen V, Huysmans S. 2003. Pollen morphology of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) and its relation to systematics. Botanical Journal of the Linnean Society 143: 375–390.

Stadler R, Truernit E, Gahrtz M, Sauer N. 1999. The AtSUC1 sucrose carrier may represent the osmotic driving force for anther dehiscence and pollen tube growth in *Arabidopsis*. The Plant Journal 19: 269–278.

Stauffer F W, Baker W J, Dransfield J, Endress P K. 2004. Comparative floral structure and systematics of *Pelagodoxa* and *Sommieria* (Arecaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 146: 27–39.

Thomson J D, Wilson P, Valenzuela M, Malzone M. 2000. Pollen presentation and pollination syndromes, with special reference to *Penstemon*. Plant Species Biology 15: 11–29.

Tian H Q, Kuang A, Musgrave M E. 1998. Calcium distribution in fertile and sterile anthers of photoperiod sensitive genic male-sterile rice. Planta 204: 183–192.

Tsou C-H. 1997. Embryology of the Theaceae—anther and ovule development of *Camellia*, *Franklinia*, and *Schima*. American Journal of Botany 84: 369–381.

Von Balthazar M, Endress P K. 2002. Reproductive structures and systematics of Buxaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 140: 193–228.

Webster G L, Carpenter K J. 2002. Pollen morphology and phylogenetic relationships in neotropical *Phyllanthus* (Euphorbiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 138: 325–338.